

HPLC 同时测定参茸养生酒中人参皂苷 R_{g_1} 、Re 和 R_{b_1} 的含量

★ 毕晓黎 孙冬梅 罗文汇 (广东省中医研究所 广州 510095)

摘要:目的:建立参茸养生酒中人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 Re 和人参皂苷 R_{b_1} 的含量测定方法。方法:采用 Kromasil C18 柱,以乙腈-水为流动相进行梯度洗脱,检测波长为 203 nm,柱温 20 ℃。结果:人参皂苷 R_{g_1} 在 0.462 0~1.386 0 μg 之间、人参皂苷 Re 在 0.833 6~2.500 8 μg 之间、人参皂苷 R_{b_1} 在 1.641 6~4.924 8 μg 之间呈良好的线性关系;样品精密度试验、稳定性试验、重复性试验中 RSD 均小于 2%;人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 Re 和人参皂苷 R_{b_1} 的平均回收率分别为 97.25%、97.04% 和 96.87%,且 RSD 均小于 2% ($n=6$)。结论:采用 HPLC 同时测定参茸养生酒中人参皂苷 R_{g_1} 、Re 和 R_{b_1} 的含量,方法简便,重现性好,可用于参茸养生酒的质量控制及质量评价。

关键词:参茸养生酒;人参皂苷 R_{g_1} ;人参皂苷 Re;人参皂苷 R_{b_1} ;HPLC 法

中图分类号:R 284 **文献标识码:**B

参茸养生酒由人参、鹿茸、五味子、当归等药材加工制成,具有补益气血、益肾通阳等功效,为有效地控制该制剂的质量,采用 HPLC 法测定方中人参所含人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 Re 和人参皂苷 R_{b_1} 的含量,经方法学研究,人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 Re 和人参皂苷 R_{b_1} 在所选用测定条件下能够得到较好地分离,检测灵敏度高,测定专属性强,阴性无干扰,可以作为本品的含量测定控制指标。

1 仪器与试剂

Agilent1100 高效液相色谱仪,四元泵,DAD 检测器;Kromasil C_{18} 柱 ($4.6 \times 250 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$);人参皂苷 R_{g_1} 对照品(中国药品生物制品检定所,批号:0703-200120);人参皂苷 Re 对照品(中国药品生物制品检定所,批号:0754-9608);人参皂苷 R_{b_1} 对照品(中国药品生物制品检定所,批号:0704-200012);乙腈为色谱纯,水为重蒸水,其他试剂均为分析纯。参茸养生酒由广东省中医研究所自制。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:Kromasil C_{18} 柱 ($4.6 \times 250 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$);检测波长:203 nm;流速:1.0 ml/分钟;柱温:20 ℃;进样量:20 μl ;流动相:乙腈-水为流动相梯度洗脱(见表 1)。理论塔板数按人参皂苷 Re

峰计算应不低于 3 000。

表 1 流动相梯度

时间/分钟	水(%)	乙腈(%)
0~50	81→80	19→20
50~75	80→60	20→40

2.2 人参皂苷 R_{g_1} 、Re 和 R_{b_1} 对照品溶液的制备

精密称取人参皂苷 R_{g_1} 对照品 11.55 mg,置 50 ml 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得人参皂苷 R_{g_1} 对照品储备液($0.2310 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$);精密称取人参皂苷 Re 对照品 10.42 mg,置 25 ml 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得人参皂苷 Re 对照品储备液($0.4168 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$);精密称取人参皂苷 R_{b_1} 对照品 20.52 mg,置 25 ml 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得人参皂苷 R_{b_1} 对照品储备液($0.8208 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$)。

精密量取人参皂苷 R_{g_1} 对照品储备液、人参皂苷 Re 对照品储备液和人参皂苷 R_{b_1} 对照品储备液各 2 ml,置 10 ml 量瓶中,加入甲醇至刻度,摇匀,即得人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 Re 和人参皂苷 R_{b_1} 对照品混合溶液(人参皂苷 R_{g_1} $46.20 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 、人参皂苷 Re $83.36 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 和人参皂苷 R_{b_1} $164.16 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)。

2.3 供试品溶液的制备 精密量取参茸养生酒样品 50 ml, 置蒸发皿中, 水浴蒸至无醇味, 放冷, 用水 10 ml 分次洗入分液漏斗中, 加三氯甲烷振摇提取 2 次, 每次 20 ml, 弃去三氯甲烷液, 水液加水饱和的正丁醇振摇提取 4 次, 每次 20 ml, 合并正丁醇液, 加氨试液 20 ml 洗涤一次, 弃去氨液, 正丁醇液蒸干, 残渣加甲醇溶解并转移至 5 ml 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μm) 滤过, 即得供试品溶液。

2.4 阴性干扰试验 取缺人参药材的阴性样品 50 ml, 按“2.3”供试品溶液的制备项下制得阴性对照溶液。分别精密吸取供试品溶液、阴性溶液与对照品溶液, 注入液相色谱仪, 按照设定的色谱条件进行测定。结果阴性样品色谱在人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb_1 相应的位置上无吸收峰, 表明阴性样品对测定无干扰。见图 1~3。

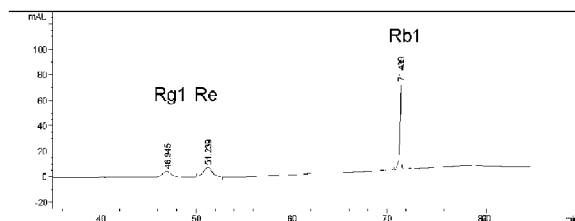


图 1 对照品溶液图谱

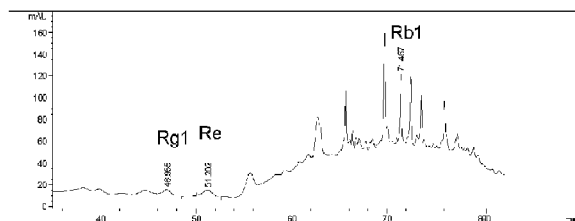


图 2 供试品图谱

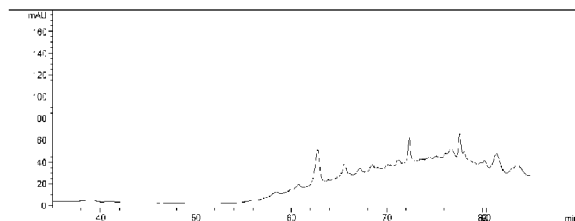


图 3 阴性样品图谱

2.5 线性关系考察 精密量取人参皂苷 Rg_1 对照品储备液(0.2310 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$)、人参皂苷 Re 对照品储备液(0.4168 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$)和人参皂苷 Rb_1 对照品储备液(0.8208 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$)各 1、1.5、2、2.5、3

ml, 分别置 10 ml 量瓶中, 加入甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成每 1 ml 含人参皂苷 Rg_1 23.10、34.65、46.20、57.75、69.30 μg , 人参皂苷 Re 41.68、62.52、83.36、104.20、125.04 μg 和人参皂苷 Rb_1 82.08、123.12、164.16、205.20、246.24 μg 的对照品混合溶液。精密吸取上述溶液各 20 μL , 注入液相色谱仪, 按照设定的色谱条件进行测定。以峰面积为纵坐标(Y), 进样量(μg)为横坐标(X), 绘制标准曲线。人参皂苷 Rg_1 的回归方程为: $Y = 329.05X - 5.97$, $r = 0.9999$; 人参皂苷 Re 的回归方程为: $Y = 292.10X + 19.48$, $r = 0.9996$; 人参皂苷 Rb_1 的回归方程为: $Y = 231.98X + 26.73$, $r = 0.9999$ 。

结果表明人参皂苷 Rg_1 在 0.462 ~ 1.386 0 μg 之间呈良好的线性关系, 人参皂苷 Re 在 0.833 6 ~ 2.500 8 μg 之间呈良好的线性关系, 人参皂苷 Rb_1 在 1.641 6 ~ 4.924 8 μg 之间呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验 精密吸取人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb_1 对照品混合溶液(46.20 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$; 83.36 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$; 164.16 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) 20 μL , 注入液相色谱仪, 依法测定, 连续进样 6 次, 测定峰面积。结果表明: 人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb_1 的峰面积相对标准偏差(RSD)分别为 0.82%、0.36% 和 0.73%, 均小于 2%, 说明精密度良好。

2.7 重复性试验 取参茸养生酒样品 5 份, 按上述供试品溶液的制备方法处理。各取供试品溶液 20 μL 注入液相色谱仪, 依法测定。结果表明: 人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb_1 的平均含量分别为 4.26 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、7.77 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 和 15.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 相对标准偏差(RSD)分别为 1.43%、1.21% 和 1.07%, 均小于 2%, 说明重复性良好。

2.8 稳定性试验 取同一供试品溶液, 每隔 2 小时测定一次, 共测定 6 次。结果表明: 人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb_1 的峰面积相对标准偏差(RSD)分别为 1.43%、1.15% 和 0.94%, 均小于 2%, 说明样品在 10 小时内具有良好的稳定性。

2.9 回收率试验 精密量取已知含量样品 6 份, 每份 25 ml, 置蒸发皿中, 分别加入人参皂苷 Rg_1 对照品储备液(0.231 0 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$)、人参皂苷 Re 对照品储备液(0.416 8 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$)和人参皂苷 Rb_1 对照品储备液(0.820 8 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$)各 0.5 ml, 按供试品溶液的制备方法处理, 依法测定。结果表明: 人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb_1 的平均回收率分别为 97.25%、97.04% 和 96.87%, 回收率相对标准

树皮类中药材重金属含量的测评

★ 叶国华 (山东中医药高等专科学校 莱阳 265200)

摘要:目的:测定贵州产的2种中药材杜仲与黄柏重金属的含量,为树皮类中药材的质量控制提供更多的依据。方法:原子吸收光谱法和原子荧光光谱法。结果:样品中重金属的检出率较高,药材中Hg没有超标,Pb的超标率严重,其次是Cu的超标率也较严重,再次是Cd。结论:本研究所建立的方法具有简便、快速、准确、灵敏度高的优点,为不同种类的中药材中重金属含量测定提供了方法。

关键词:中药材;重金属;测评

中图分类号:R 284.1 **文献标识码:**B

中药是中医药学的瑰宝,以其丰富的资源、独特的疗效,越来越受到世界各国的青睐和重视。但是由于中药材受其生长环境的污染以及药材种类的自身特点^[1],都含有一定的有害重元素,如铅(Pb)、砷

(As)、汞(Hg)、铜(Cu)、镉(Cd)等。重金属是中药的重要污染物之一,国际上通常监控上述5种元素。现代科学已证明了重金属残留能够进入人体并与酶蛋白牢固结合,导致组织细胞出现结构和功能上的

偏差(RSD)分别为1.23%、1.48%和1.33%,均小于2%,说明本法具有良好的回收率,见表2~4。

表2 制剂中人参皂苷Rg₁加样回收率试验结果

编号	样品含量/ μg	加入对照 品量/μg	实测量/ μg	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	106.50	115.50	219.71	98.02	97.25	1.23
2	106.50	115.50	216.55	95.28		
3	106.50	115.50	218.92	97.33		
4	106.50	115.50	220.38	98.60		
5	106.50	115.50	217.97	96.51		
6	106.50	115.50	219.40	97.75		

表3 制剂中人参皂苷Re加样回收率试验结果

编号	样品含量/ μg	加入对照 品量/μg	实测量/ μg	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	194.25	208.40	400.55	98.99	97.04	1.48
2	194.25	208.40	397.27	97.42		
3	194.25	208.40	393.42	95.57		
4	194.25	208.40	398.96	98.23		
5	194.25	208.40	393.13	95.43		
6	194.25	208.40	395.52	96.58		

表4 制剂中人参皂苷Rb₁加样回收率试验结果

编号	样品含量/ μg	加入对照 品量/μg	实测量/ μg	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	378.25	410.40	773.67	96.35	96.87	1.33
2	378.25	410.40	779.25	97.71		
3	378.25	410.40	772.03	95.95		
4	378.25	410.40	783.89	98.84		
5	378.25	410.40	769.28	95.28		
6	378.25	410.40	776.71	97.09		

3 讨论

人为本方中君药,其有效成分以皂苷类为主。《中国药典》2005年版一部人参药材的含量测定以人参皂苷Rg₁、人参皂苷Re和人参皂苷Rb₁为指标,因此我们也选用了这三个成分作为制剂的质量控制指标,建立含量测定方法。

在提取纯化方法的研究中,比较了乙醚和氯仿脱脂的效果,结果表明采用氯仿脱脂处理后的样品杂质峰更少,且对人参皂苷Rg₁、人参皂苷Re和人参皂苷Rb₁的色谱峰均无干扰,因此最终确定采用氯仿脱脂。

参考《中国药典》2005年版一部人参的含量测定项下方法建立色谱条件,但对梯度洗脱的参数进行了调整,缩短了分析时间。经方法学考察,证明本法准确性与重现性较好,可以作为参茸养生酒的含量测定方法。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京:化学工业出版社,2005:7.
- [2] 管庆霞,吕邵娃,崔淑霞,等. HPLC法测定健心中三七皂苷R₁和人参皂苷Rg₁的含量[J]. 中医药学报,2006,34(1):12.
- [3] 夏晶,王钢力,季申,等. HPLC测定生脉注射液4种成分的含量[J]. 中成药,2006,28(1):27.

(收稿日期:2008-03-10)